

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

REC'D 28 SEP 2004

WIPO

PCT

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts P 02/101JS/R	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/PEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 03/06092	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 11.06.2003	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 25.06.2002
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C07K14/415		
Anmelder MERCK PATENT GMBH et al.		

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.



2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 7 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.

- ☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

Diese Anlagen umfassen insgesamt 35 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Bescheids
- II ☐ Priorität
- III ☒ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Regel 66.2 a)ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 14.01.2004	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 27.09.2004
Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Brenz Verca, S Tel. +49 89 2399-7702 

I. Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigefügt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):

Beschreibung, Seiten

1-26 in der ursprünglich eingereichten Fassung

Sequenzen, Seiten

1-32 eingegangen am 28.08.2003 mit Schreiben vom 26.08.2003

Ansprüche, Nr.

1-20 eingegangen am 12.08.2004 mit Schreiben vom 10.08.2004

Zeichnungen, Blätter

1/5-5/5 in der ursprünglich eingereichten Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um:

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☒ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☒ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP 03/06092

- ☐ Ansprüche, Nr.:
☐ Zeichnungen, Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen.)

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

III. Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit

1. Folgende Teile der Anmeldung wurden nicht daraufhin geprüft, ob die beanspruchte Erfindung als neu, auf erfinderischer Tätigkeit beruhend (nicht offensichtlich) und gewerblich anwendbar anzusehen ist:

- ☐ die gesamte internationale Anmeldung,

- ☒ Ansprüche Nr. 6, 8 (both partially)

Begründung:

- ☐ Die gesamte internationale Anmeldung, bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. beziehen sich auf den nachstehenden Gegenstand, für den keine internationale vorläufige Prüfung durchgeführt werden braucht (*genaue Angaben*):

- ☐ Die Beschreibung, die Ansprüche oder die Zeichnungen (*machen Sie bitte nachstehend genaue Angaben*) oder die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unklar, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte (*genaue Angaben*):

- ☐ Die Ansprüche bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unzureichend durch die Beschreibung gestützt, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte.

- ☒ Für die obengenannten Ansprüche Nr. 6, 8 (both partially) wurde kein internationaler Recherchenbericht erstellt.

2. Eine sinnvolle internationale vorläufige Prüfung kann nicht durchgeführt werden, weil das Protokoll der Nukleotid- und/oder Aminosäuresequenzen nicht dem in Anlage C der Verwaltungsvorschriften vorgeschriebenen Standard entspricht:

- ☐ Die schriftliche Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.

- ☐ Die computerlesbare Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung
Neuheit (N)

Ja: Ansprüche 1-5,7,9-12,14-20

Nein: Ansprüche 13

Erfinderische Tätigkeit (IS)

Ja: Ansprüche

Nein: Ansprüche 1-5,7,9-20

Gewerbliche Anwendbarkeit (IA)

Ja: Ansprüche: 1-5,7,9-20

Nein: Ansprüche:

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/EP 03/06092

2. Unterlagen und Erklärungen:

siehe Beiblatt

Zu Punkt III : Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit

Der Anmelder wird auf den Internationalen Recherchenbericht (Feld I, Punkt 2. und PCT/ISA 210) verwiesen. Die dort geltend gemachten Einwände unter Artikel 5 und Artikel 6 PCT betreffend Ansprüche 6 und 8 werden hier mit derselben Begründung aufrechterhalten.

Zu Punkt V : Begründete Feststellung hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

- D1:** SUCK R ET AL: "The high molecular mass allergen fraction of timothy grass pollen (Phleum pratense) between 50-60 kDa is comprised of two major allergens: Ph1 p 4 and Ph1 p 13" CLINICAL AND EXPERIMENTAL ALLERGY, Bd. 30, Nr. 10, Oktober 2000 (2000-10), Seiten 1395-1402, XP002260344 ISSN: 0954-7894
- D2:** FISHER S ET AL: "Characterization of Phl p4, a major timothy grass (Phleum pratense) pollen allergen" JOURNAL OF ALLERGY AND CLINICAL IMMUNOLOGY, MOSBY - YEARLY BOOK, INC, US, Bd. 98, Nr. 1, Juli 1996 (1996-07), Seiten 189-198, XP000953216 ISSN: 0091-6749
- D3:** FAHLBUSCH B ET AL: "Detection and quantification of group 4 allergens in grass pollen extracts using monoclonal antibodies" CLINICAL AND EXPERIMENTAL ALLERGY, Bd. 28, Nr. 7, Juli 1998 (1998-07), Seiten 799-807, XP002260345 ISSN: 0954-7894
- D4:** SUCK R ET AL: "COMPLEMENTARY DNA CLONING AND EXPRESSION OF A NEWLY RECOGNIZED HIGHMOLECULAR MASS ALLERGEN PHL P 13 FROM TIMOTHY GRASS POLLEN (PHLEUM PRATENSE)" CLINICAL AND EXPERIMENTAL ALLERGY, BLACKWELL SCIENTIFIC PUBLICATIONS, LONDON, GB, Bd. 30, Nr. 3, März 2000 (2000-03), Seiten 324-332, XP000953168 ISSN: 0954-7894
- D5:** STUMVOLL SABINE ET AL: "Purification, structural and immunological characterization of a timothy grass (Phleum pratense) pollen allergen, Phl p 4, with cross-reactive potential." BIOLOGICAL CHEMISTRY, Bd. 383, Nr. 9, September 2002 (2002-09), Seiten 1383-1396, XP002260346 ISSN: 1431-6730

Das folgende Dokument wurde im internationalen Recherchenbericht nicht angegeben:

D6: Leduc-Brodard V, Inacio F, Jaquinod M, Forest E, David B, Peltre G.:
"Characterization of Dac g 4, a major basic allergen from Dactylis glomerata pollen."
, in J Allergy Clin Immunol. Bd. 98, Nr. 6 Pt 1, Dezember 1996 (1996-12), Seiten
1065-1072 , XP009032626

1. Neuheit

1.1 Anspruch 13, bezogen auf Anspruch 3, deckt nichts anderes als ein Phl p 4 Polypeptid. Gereinigtes Phl p 4 ist jedoch schon bekannt aus **D1** und **D3** (D1: Figur 1, lane 2; D3: Figur 1), folglich erfüllt dieser Anspruch nicht die Erfordnisse von Artikel 33(2) PCT.

Ausserdem ist Anspruch 13 auch bezogen auf Anspruch 5 nicht neu, weil damit ein Polypeptid beansprucht wird, das mit dem Allergen Phl p 4 kreuzreagiert. Aus D3 ist aber bekannt, dass ein gegen Phl p 4 gerichteter monoklonaler Antikörper homologe Proteine aus anderen Gräsern erkennt, unter anderem Dactylis glomerata Dac g 4 (D3: Figur 6 und Figur 7; S. 804, r. Spalte, letzter Absatz - S. 805, linke Spalte, Zeile 6). Gereinigtes Dac g 4 war schon aus D6 bekannt (D6: S. 1069, rechte Spalte, letzter Absatz; S. 1070, rechte Spalte, Absatz 2), also trifft D6 die Neuheit von Anspruch 13.

Der Begriff "*rekombinant*" im Bezug auf das Polypeptid von Anspruch 13 ändert gar nichts, da selbst unter Anwendung rekombinanter DNA-Technologie das Polypeptid durchaus identisch mit dem Polypeptid aus dem Stand der Technik sein kann. Der Begriff "*rekombinant*" weist nur auf die verwendete Herstellungsmethode hin, ist jedoch nicht zwingend mit technischen Merkmalen assoziiert, die das Polypeptid vom bekannten Polypeptid unterscheiden (siehe PCT Richtlinien 5.26-5.27).

1.2 Die restlichen Ansprüche scheinen die Kriterien von A33(2) PCT zu erfüllen.

2. Erfinderische Tätigkeit

2.1 Als nächster Stand der Technik kann Dokument **D1** gesehen werden. D1 offenbart die Reinigung der Hauptallergene Phl p 4 und Phl p 13 aus Phleum pratense (D1: S. 1396, linke Spalte, letzter Absatz - rechte Spalte, Absatz 1; Figur 1). Die beiden Allergene werden als wichtige Kandidaten für potentielle rekombinante therapeutische Mittel für die verbesserte Immunotherapie dargestellt (D1: Zusammenfassung).

Die vorliegende Anmeldung liefert die Polynukleotid- und Polypeptidsequenzen von Isoformen des Allergens Phl p4. Rekombinantes Phl p 4 wurde in E. coli exprimiert, einzelne Fragmente von Phl p 4 mit hypoallergenen Eigenschaften wurden erzeugt

und getestet.

Im Lichte des nächsten Standes der Technik war die zu lösende Aufgabe die Bereitstellung der vollständigen DNA Sequenz des Phl p 4 als Grundlage für therapeutische Mittel für die verbesserte Immunotherapie von Graspollen-Allergien.

Die Bestimmung der kodierenden DNA Sequenz ausgehend von einem Protein, das im Stand der Technik wiederholt (**D1** sowie **D3**) schon in gereinigter Form erhalten werden konnte, erfordert a priori vom heutigen Fachmann keine erfinderische Tätigkeit. Bei Graspollenallergenen der Gruppe 4 aus anderen Spezies konnten schon Sequenz von Peptiden aus enzymatischem Verdau ermittelt werden (z.B. **D6**: S. 1068, rechte Spalte, Absatz 2). **D4** offenbart am Beispiel des Allergens Phl p 13, dessen gereinigte Form ebenfalls im nächsten Stand der Technik **D1** vorkommt, wie der Fachmann bei dieser Aufgabe vorgehen könnte, nämlich durch Mikrosequenzierung des gereinigten Proteins oder deren proteolytischen Fragmente, Erzeugung von degenerierten Oligonukleotiden aufgrund der partiellen Proteinsequenzen, Amplifizierung einer Sonde für den Screening einer DNA-Bank oder RACE (**D4**: Abschnitt "Methods").

Was das Vorkommen von verschiedenen Isoformen von Phl p 4 betrifft, selbst der Anmelder äussert dass "die Existenz solcher Isoformen aufgrund des heterogenen isoelektrischen Verhaltens des natürlichen Phl p 4 zu erwarten ist" und dass "alle bisher bekannten Pollenallergene solche Isoformen aufweisen". Es scheint also keineswegs überraschend, dass verschiedene Isoformen von Phl p 4 vorliegen.

Aus den obengenannten Gründen kann für die Lösung des Problems, nämlich die Bestimmung der Primärstruktur des Gruppe 4 Majorallergens Phl p 4 aus *Phleum pratense* keine erfinderische Tätigkeit unter A33(3) PCT anerkannt werden.

3. Industrielle Anwendbarkeit

Sofern einzelne Ansprüche nicht unter Punkt III von der Prüfung ausgeschlossen wurden, genügt der vorliegende Anspruchssatz den Erfordernissen von A33(4) PCT.

Sequenz-Protokoll

<110> Merck Patent GmbH

<120> DNA-Sequenz und rekombinante Herstellung des Graspollen-Allergens
Phl p 4

<130> P 02/101

<140> EP 02 013953.1

<141> 2002-06-25

<160> 52

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 1503

<212> DNA

<213> Phleum pratense

<220>

<221> artificial_DNA_sequence

<222> (1)..(69)

<223> DNA sequence derived from sequenced protein

<220>

<221> native_DNA_sequence

<222> (70)..(1503)

<223>

- 2 -

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1503)

<223>

<400> 1

tac ttc ccg ccg ccg gct gct aaa gaa gac ttc ctg ggt tgc ctg gtt	48
Tyr Phe Pro Pro Pro Ala Ala Lys Glu Asp Phe Leu Gly Cys Leu Val	
1 5 10 15	
aaa gaa atc ccg ccg cgt ctg ttg tac gcg aaa tcg tcg ccg gcg tat	96
Lys Glu Ile Pro Pro Arg Leu Leu Tyr Ala Lys Ser Ser Pro Ala Tyr	
20 25 30	
ccc tca gtc ctg ggg cag acc atc ccg aac tcg ccg tgg tcg tcg ccg	144
Pro Ser Val Leu Gly Gln Thr Ile Arg Asn Ser Arg Trp Ser Ser Pro	
35 40 45	
gac aac gtg aag ccg atc tac atc gtc acc ccc acc aac gcc tcc cac	192
Asp Asn Val Lys Pro Ile Tyr Ile Val Thr Pro Thr Asn Ala Ser His	
50 55 60	
atc cag tcc gcc gtg gtg tgc ggc cgc ccg cac ggt gtc cgc atc cgc	240
Ile Gln Ser Ala Val Val Cys Gly Arg Arg His Gly Val Arg Ile Arg	
65 70 75 80	
gtg cgc agc ggc ggg cac gac tac gag ggc ctc tcg tac ccg tcc ctg	288
Val Arg Ser Gly Gly His Asp Tyr Glu Gly Leu Ser Tyr Arg Ser Leu	
85 90 95	
cag ccc gag gag ttc gcc gtc gtc gac ctt agc aag atg ccg gcc gtg	336
Gln Pro Glu Glu Phe Ala Val Val Asp Leu Ser Lys Met Arg Ala Val	
100 105 110	
tgg gtg gac ggg aag gcc cgc acg gcg tgg gtc gac tcc ggc gcg cag	384
Trp Val Asp Gly Lys Ala Arg Thr Ala Trp Val Asp Ser Gly Ala Gln	
115 120 125	
ctc ggc gag ctc tac tac gcc atc cac aag gcg agt aca gtg ctg gcg	432
Leu Gly Glu Leu Tyr Tyr Ala Ile His Lys Ala Ser Thr Val Leu Ala	
130 135 140	
ttc ccg gcc ggc gtg tgc ccg acc atc ggc gtg ggc ggc aac ttc gcg	480
Phe Pro Ala Gly Val Cys Pro Thr Ile Gly Val Gly Gly Asn Phe Ala	
145 150 155 160	
ggc ggc ggc ttc ggc atg ctg ctg cgc aag tac ggc atc gcg gcc gag	528
Gly Gly Gly Phe Gly Met Leu Leu Arg Lys Tyr Gly Ile Ala Ala Glu	
165 170 175	
aac gtc atc gac gtg aag ctc gtc gac gcc aac ggc acg ctg cac gac	576
Asn Val Ile Asp Val Lys Leu Val Asp Ala Asn Gly Thr Leu His Asp	
180 185 190	
aag aag tcc atg ggc gac gac cat ttc tgg gcc gtc agg ggc ggc ggc	624
Lys Lys Ser Met Gly Asp Asp His Phe Trp Ala Val Arg Gly Gly Gly	
195 200 205	

- 3 -

ggc gag agc ttc ggc atc gtg gtc gcg tgg aag gtg agg ctc ctg ccg Gly Glu Ser Phe Gly Ile Val Val Ala Trp Lys Val Arg Leu Leu Pro 210 215 220	672
gtg ccg ccc acg gtg acc gtg ttc aag atc ccc aag aag gcg agc gag Val Pro Pro Thr Val Thr Val Phe Lys Ile Pro Lys Lys Ala Ser Glu 225 230 235 240	720
ggc gcc gtg gac atc atc aac agg tgg cag gtg gtc gcg ccg cag ctc Gly Ala Val Asp Ile Ile Asn Arg Trp Gln Val Val Ala Pro Gln Leu 245 250 255	768
ccc gac gac ctc atg atc cgc gtc atc gcg cag ggc ccc acg gcc acg Pro Asp Asp Leu Met Ile Arg Val Ile Ala Gln Gly Pro Thr Ala Thr 260 265 270	816
ttc gag gcc atg tac ctg ggc acc tgc caa acc ctg acg ccg atg atg Phe Glu Ala Met Tyr Leu Gly Thr Cys Gln Thr Leu Thr Pro Met Met 275 280 285	864
agc agc aag ttc ccg gag ctc ggc atg aac gcc tcg cac tgc aac gag Ser Ser Lys Phe Pro Glu Leu Gly Met Asn Ala Ser His Cys Asn Glu 290 295 300	912
atg tcg tgg atc cag tcc atc ccc ttc gtc cac ctc ggc cac agg gac Met Ser Trp Ile Gln Ser Ile Pro Phe Val His Leu Gly His Arg Asp 305 310 315 320	960
aac atc gag gac gac ctc ctc aac cgg aac aac acc ttc aag ccc ttc Asn Ile Glu Asp Asp Leu Leu Asn Arg Asn Asn Thr Phe Lys Pro Phe 325 330 335	1008
gcc gaa tac aag tcg gac tac gtc tac gag ccg ttc ccc aag agg gtg Ala Glu Tyr Lys Ser Asp Tyr Val Tyr Glu Pro Phe Pro Lys Arg Val 340 345 350	1056
tgg gag cag atc ttc agc acc tgg ctc ctg aag ccc ggc gcg ggg atc Trp Glu Gln Ile Phe Ser Thr Trp Leu Leu Lys Pro Gly Ala Gly Ile 355 360 365	1104
atg atc ttc gac ccc tac ggc gcc acc atc agc gcc acc ccg gag tgg Met Ile Phe Asp Pro Tyr Gly Ala Thr Ile Ser Ala Thr Pro Glu Trp 370 375 380	1152
gcg acg ccg ttc cct cac cgc aag ggc gtc ctc ttc aac atc cag tac Ala Thr Pro Phe Pro His Arg Lys Gly Val Leu Phe Asn Ile Gln Tyr 385 390 395 400	1200
gtc aac tac tgg ttc gcc ccg gga gcc ggc gcg gcg cca ttg tcg tgg Val Asn Tyr Trp Phe Ala Pro Gly Ala Gly Ala Ala Pro Leu Ser Trp 405 410 415	1248
agc aag gag atc tac aac tac atg gag cca tac gtg agc aag aac ccc Ser Lys Glu Ile Tyr Asn Tyr Met Glu Pro Tyr Val Ser Lys Asn Pro 420 425 430	1296
agg cag gcc tac gcc aac tac agg gac atc gac ctc ggg agg aac gag Arg Gln Ala Tyr Ala Asn Tyr Arg Asp Ile Asp Leu Gly Arg Asn Glu 435 440 445	1344
gtg gtg aac gac gtc tcc acc ttc agc agc ggt ttg gtg tgg ggc cag	1392

- 4 -

Val Val Asn Asp Val Ser Thr Phe Ser Ser Gly Leu Val Trp Gly Gln
 450 455 460

aaa tac ttc aag ggc aat ttc cag agg ctc gcc atc acc aag ggc aag 1440
 Lys Tyr Phe Lys Gly Asn Phe Gln Arg Leu Ala Ile Thr Lys Gly Lys
 465 470 475 480

gtg gat ccc acc gac tac ttc agg aac gag cag agc atc ccg ccg ctc 1488
 Val Asp Pro Thr Asp Tyr Phe Arg Asn Glu Gln Ser Ile Pro Pro Leu
 485 490 495

atc aaa aag tac tga 1503
 Ile Lys Lys Tyr
 500

<210> 2

<211> 500

<212> PRT

<213> Phleum pratense

<400> 2

Tyr Phe Pro Pro Pro Ala Ala Lys Glu Asp Phe Leu Gly Cys Leu Val
 1 5 10 15

Lys Glu Ile Pro Pro Arg Leu Leu Tyr Ala Lys Ser Ser Pro Ala Tyr
 20 25 30

Pro Ser Val Leu Gly Gln Thr Ile Arg Asn Ser Arg Trp Ser Ser Pro
 35 40 45

Asp Asn Val Lys Pro Ile Tyr Ile Val Thr Pro Thr Asn Ala Ser His
 50 55 60

Ile Gln Ser Ala Val Val Cys Gly Arg Arg His Gly Val Arg Ile Arg
 65 70 75 80

Val Arg Ser Gly Gly His Asp Tyr Glu Gly Leu Ser Tyr Arg Ser Leu
 85 90 95

Gln Pro Glu Glu Phe Ala Val Val Asp Leu Ser Lys Met Arg Ala Val
 100 105 110

Trp Val Asp Gly Lys Ala Arg Thr Ala Trp Val Asp Ser Gly Ala Gln
 115 120 125

Leu Gly Glu Leu Tyr Tyr Ala Ile His Lys Ala Ser Thr Val Leu Ala
 130 135 140

- 5 -

Phe Pro Ala Gly Val Cys Pro Thr Ile Gly Val Gly Gly Asn Phe Ala
 145 150 155 160

Gly Gly Gly Phe Gly Met Leu Leu Arg Lys Tyr Gly Ile Ala Ala Glu
 165 170 175

Asn Val Ile Asp Val Lys Leu Val Asp Ala Asn Gly Thr Leu His Asp
 180 185 190

Lys Lys Ser Met Gly Asp Asp His Phe Trp Ala Val Arg Gly Gly Gly
 195 200 205

Gly Glu Ser Phe Gly Ile Val Val Ala Trp Lys Val Arg Leu Leu Pro
 210 215 220

Val Pro Pro Thr Val Thr Val Phe Lys Ile Pro Lys Lys Ala Ser Glu
 225 230 235 240

Gly Ala Val Asp Ile Ile Asn Arg Trp Gln Val Val Ala Pro Gln Leu
 245 250 255

Pro Asp Asp Leu Met Ile Arg Val Ile Ala Gln Gly Pro Thr Ala Thr
 260 265 270

Phe Glu Ala Met Tyr Leu Gly Thr Cys Gln Thr Leu Thr Pro Met Met
 275 280 285

Ser Ser Lys Phe Pro Glu Leu Gly Met Asn Ala Ser His Cys Asn Glu
 290 295 300

Met Ser Trp Ile Gln Ser Ile Pro Phe Val His Leu Gly His Arg Asp
 305 310 315 320

Asn Ile Glu Asp Asp Leu Leu Asn Arg Asn Asn Thr Phe Lys Pro Phe
 325 330 335

Ala Glu Tyr Lys Ser Asp Tyr Val Tyr Glu Pro Phe Pro Lys Arg Val
 340 345 350

Trp Glu Gln Ile Phe Ser Thr Trp Leu Leu Lys Pro Gly Ala Gly Ile
 355 360 365

Met Ile Phe Asp Pro Tyr Gly Ala Thr Ile Ser Ala Thr Pro Glu Trp
 370 375 380

- 6 -

Ala Thr Pro Phe Pro His Arg Lys Gly Val Leu Phe Asn Ile Gln Tyr
385 390 395 400

Val Asn Tyr Trp Phe Ala Pro Gly Ala Gly Ala Ala Pro Leu Ser Trp
405 410 415

Ser Lys Glu Ile Tyr Asn Tyr Met Glu Pro Tyr Val Ser Lys Asn Pro
420 425 430

Arg Gln Ala Tyr Ala Asn Tyr Arg Asp Ile Asp Leu Gly Arg Asn Glu
435 440 445

Val Val Asn Asp Val Ser Thr Phe Ser Ser Gly Leu Val Trp Gly Gln
450 455 460

Lys Tyr Phe Lys Gly Asn Phe Gln Arg Leu Ala Ile Thr Lys Gly Lys
465 470 475 480

Val Asp Pro Thr Asp Tyr Phe Arg Asn Glu Gln Ser Ile Pro Pro Leu
485 490 495

Ile Lys Lys Tyr
500

<210> 3

<211> 1503

<212> DNA

<213> Phleum pratense

<220>

<221> artificial_DNA_sequence

<222> (1)..(69)

<223> DNA sequence derived from sequenced protein

<220>

<221> native_DNA_sequence

<222> (70)..(1503)

<223>

- 7 -

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1503)

<223>

<400> 3

tac	ttc	ccg	ccg	ccg	gct	gct	aaa	gaa	gac	ttc	ctg	ggt	tgc	ctg	gtt	48
Tyr	Phe	Pro	Pro	Pro	Ala	Ala	Lys	Glu	Asp	Phe	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	
1				5					10					15		

aaa	gaa	atc	ccg	ccg	cgt	ctg	ttg	tac	gcg	aaa	tcg	tcg	ccg	gcg	tat	96
Lys	Glu	Ile	Pro	Pro	Arg	Leu	Leu	Tyr	Ala	Lys	Ser	Ser	Pro	Ala	Tyr	
			20					25					30			

ccc	tca	gtc	ctg	ggg	cag	acc	atc	cgg	aac	tcg	cgg	tgg	tcg	tcg	ccg	144
Pro	Ser	Val	Leu	Gly	Gln	Thr	Ile	Arg	Asn	Ser	Arg	Trp	Ser	Ser	Pro	
		35					40					45				

gac	aac	gtg	aag	ccg	atc	tac	atc	gtc	acc	ccc	acc	aac	gcc	tcc	cac	192
Asp	Asn	Val	Lys	Pro	Ile	Tyr	Ile	Val	Thr	Pro	Thr	Asn	Ala	Ser	His	
	50					55					60					

atc	cag	tcc	gcc	gtg	gtg	tgc	ggc	cgc	cgg	cac	ggt	gtc	cgc	atc	cgc	240
Ile	Gln	Ser	Ala	Val	Val	Cys	Gly	Arg	Arg	His	Gly	Val	Arg	Ile	Arg	
65					70					75					80	

gtg	cgc	agc	ggc	ggg	cac	gac	tac	gag	ggc	ctc	tcg	tac	cgg	tcc	ctg	288
Val	Arg	Ser	Gly	Gly	His	Asp	Tyr	Glu	Gly	Leu	Ser	Tyr	Arg	Ser	Leu	
			85						90					95		

cag	ccc	gag	gag	ttc	gcc	gtc	gtc	gac	ctt	agc	aag	atg	cgg	gcc	gtg	336
Gln	Pro	Glu	Glu	Phe	Ala	Val	Val	Asp	Leu	Ser	Lys	Met	Arg	Ala	Val	
			100					105						110		

tgg	gtg	gac	ggg	aag	gcc	cgc	acg	gcg	tgg	gtc	gac	tcc	ggc	gcg	cag	384
Trp	Val	Asp	Gly	Lys	Ala	Arg	Thr	Ala	Trp	Val	Asp	Ser	Gly	Ala	Gln	
		115					120					125				

ctc	ggc	gag	ctc	tac	tac	gcc	atc	cac	aag	gcg	agt	cca	gtg	ctg	gcg	432
Leu	Gly	Glu	Leu	Tyr	Tyr	Ala	Ile	His	Lys	Ala	Ser	Pro	Val	Leu	Ala	
	130					135					140					

ttc	ccg	gcc	ggc	gtg	tgc	ccg	acc	atc	ggc	gtg	ggc	ggc	aac	ttc	gcg	480
Phe	Pro	Ala	Gly	Val	Cys	Pro	Thr	Ile	Gly	Val	Gly	Gly	Asn	Phe	Ala	
145					150					155					160	

ggc	ggc	ggc	ttc	ggc	atg	ctg	ctg	cgc	aag	tac	ggc	atc	gcg	gcc	gag	528
Gly	Gly	Gly	Phe	Gly	Met	Leu	Leu	Arg	Lys	Tyr	Gly	Ile	Ala	Ala	Glu	
				165					170					175		

aac	gtc	atc	gac	gtg	aag	ctc	gtc	gac	gcc	aac	ggc	acg	ctg	cac	gac	576
Asn	Val	Ile	Asp	Val	Lys	Leu	Val	Asp	Ala	Asn	Gly	Thr	Leu	His	Asp	
			180					185					190			

aag	aag	tcc	atg	ggc	gac	gac	cat	ttc	tgg	gcc	gtc	agg	ggc	ggc	ggg	624
Lys	Lys	Ser	Met	Gly	Asp	Asp	His	Phe	Trp	Ala	Val	Arg	Gly	Gly	Gly	
		195					200					205				

- 8 -

ggc gag agc ttc ggc atc gtg gtc gcg tgg aag gtg agg ctc ctg ccg Gly Glu Ser Phe Gly Ile Val Val Ala Trp Lys Val Arg Leu Leu Pro 210 215 220	672
gtg ccg ccc acg gtg acc gtg ttc aag atc ccc aag aag gcg agc gag Val Pro Pro Thr Val Thr Val Phe Lys Ile Pro Lys Lys Ala Ser Glu 225 230 235 240	720
ggc gcc gtg gac atc atc aac agg tgg cag gtg gtc gcg ccg cag ctc Gly Ala Val Asp Ile Ile Asn Arg Trp Gln Val Val Ala Pro Gln Leu 245 250 255	768
ccc gac gac ctc atg atc cgc gtc atc gcg cag gcc ccc acg gcc acg Pro Asp Asp Leu Met Ile Arg Val Ile Ala Gln Gly Pro Thr Ala Thr 260 265 270	816
ttc gag gcc atg tac ctg ggc acc tgc caa acc ctg acg ccg atg atg Phe Glu Ala Met Tyr Leu Gly Thr Cys Gln Thr Leu Thr Pro Met Met 275 280 285	864
agc agc aag ttc ccc gag ctc ggc atg aac gcc tcg cac tgc aac gag Ser Ser Lys Phe Pro Glu Leu Gly Met Asn Ala Ser His Cys Asn Glu 290 295 300	912
atg tcg tgg atc cag tcc atc ccc ttc gtc cac ctc gcc cac agg gac Met Ser Trp Ile Gln Ser Ile Pro Phe Val His Leu Gly His Arg Asp 305 310 315 320	960
aac atc gag gac gac ctc ctc aac cgg aac aac acc ttc aag ccc ttc Asn Ile Glu Asp Asp Leu Leu Asn Arg Asn Asn Thr Phe Lys Pro Phe 325 330 335	1008
gcc gaa tac aag tcg gac tac gtc tac gag ccg ttc ccc aag gaa gtg Ala Glu Tyr Lys Ser Asp Tyr Val Tyr Gln Glu Pro Phe Lys Glu Val 340 345 350	1056
tgg gag cag atc ttc agc acc tgg ctc ctg aag ccc gcc gcg ggg atc Trp Glu Gln Ile Phe Ser Thr Trp Leu Leu Lys Pro Gly Ala Gly Ile 355 360 365	1104
atg atc ttc gac ccc tac ggc gcc acc atc agc gcc acc ccg gag tgg Met Ile Phe Asp Pro Tyr Gly Ala Thr Ile Ser Ala Thr Pro Glu Trp 370 375 380	1152
gcg acg ccg ttc cct cac cgc aag ggc gtc ctc ttc aac atc cag tac Ala Thr Pro Phe Pro His Arg Lys Gly Val Leu Phe Asn Ile Gln Tyr 385 390 395 400	1200
gtc aac tac tgg ttc gcc ccg gga gcc gcc gcg gcg cca ttg tcg tgg Val Asn Tyr Trp Phe Ala Pro Gly Ala Gly Ala Ala Pro Leu Ser Trp 405 410 415	1248
agc aag gag atc tac aac tac atg gag cca tac gtg agc aag aac ccc Ser Lys Glu Ile Tyr Asn Tyr Met Glu Pro Tyr Val Ser Lys Asn Pro 420 425 430	1296
agg cag gcc tac gcc aac tac agg gac atc gac ctc ggg agg aac gag Arg Gln Ala Tyr Ala Asn Tyr Arg Asp Ile Asp Leu Gly Arg Asn Glu 435 440 445	1344
gtg gtg aac gac gtc tcc acc ttc agc agc ggt ttg gtg tgg gcc cag	1392

- 9 -

Val	Val	Asn	Asp	Val	Ser	Thr	Phe	Ser	Ser	Gly	Leu	Val	Trp	Gly	Gln	
450						455					460					
aaa	tac	ttc	aag	ggc	aat	ttc	cag	agg	ctc	gcc	atc	acc	aag	ggc	aag	1440
Lys	Tyr	Phe	Lys	Gly	Asn	Phe	Gln	Arg	Leu	Ala	Ile	Thr	Lys	Gly	Lys	
465					470					475					480	
gtg	gat	ccc	acc	gac	tac	ttc	agg	aac	gag	cag	agc	atc	ccg	ccg	ctc	1488
Val	Asp	Pro	Thr	Asp	Tyr	Phe	Arg	Asn	Glu	Gln	Ser	Ile	Pro	Pro	Leu	
				485					490					495		
atc	aaa	aag	tac	tga												1503
Ile	Lys	Lys	Tyr													
			500													

<210> 4

<211> 500

<212> PRT

<213> Phleum pratense

<400> 4

Tyr	Phe	Pro	Pro	Pro	Ala	Ala	Lys	Glu	Asp	Phe	Leu	Gly	Cys	Leu	Val
1				5				10					15		
Lys	Glu	Ile	Pro	Pro	Arg	Leu	Leu	Tyr	Ala	Lys	Ser	Ser	Pro	Ala	Tyr
			20					25					30		
Pro	Ser	Val	Leu	Gly	Gln	Thr	Ile	Arg	Asn	Ser	Arg	Trp	Ser	Ser	Pro
		35					40					45			
Asp	Asn	Val	Lys	Pro	Ile	Tyr	Ile	Val	Thr	Pro	Thr	Asn	Ala	Ser	His
	50					55					60				
Ile	Gln	Ser	Ala	Val	Val	Cys	Gly	Arg	Arg	His	Gly	Val	Arg	Ile	Arg
65					70					75					80
Val	Arg	Ser	Gly	Gly	His	Asp	Tyr	Glu	Gly	Leu	Ser	Tyr	Arg	Ser	Leu
				85					90					95	
Gln	Pro	Glu	Glu	Phe	Ala	Val	Val	Asp	Leu	Ser	Lys	Met	Arg	Ala	Val
			100					105					110		
Trp	Val	Asp	Gly	Lys	Ala	Arg	Thr	Ala	Trp	Val	Asp	Ser	Gly	Ala	Gln
		115					120					125			
Leu	Gly	Glu	Leu	Tyr	Tyr	Ala	Ile	His	Lys	Ala	Ser	Pro	Val	Leu	Ala
	130					135					140				

- 10 -

Phe Pro Ala Gly Val Cys Pro Thr Ile Gly Val Gly Gly Asn Phe Ala
145 150 155 160

Gly Gly Gly Phe Gly Met Leu Leu Arg Lys Tyr Gly Ile Ala Ala Glu
165 170 175

Asn Val Ile Asp Val Lys Leu Val Asp Ala Asn Gly Thr Leu His Asp
180 185 190

Lys Lys Ser Met Gly Asp Asp His Phe Trp Ala Val Arg Gly Gly Gly
195 200 205

Gly Glu Ser Phe Gly Ile Val Val Ala Trp Lys Val Arg Leu Leu Pro
210 215 220

Val Pro Pro Thr Val Thr Val Phe Lys Ile Pro Lys Lys Ala Ser Glu
225 230 235 240

Gly Ala Val Asp Ile Ile Asn Arg Trp Gln Val Val Ala Pro Gln Leu
245 250 255

Pro Asp Asp Leu Met Ile Arg Val Ile Ala Gln Gly Pro Thr Ala Thr
260 265 270

Phe Glu Ala Met Tyr Leu Gly Thr Cys Gln Thr Leu Thr Pro Met Met
275 280 285

Ser Ser Lys Phe Pro Glu Leu Gly Met Asn Ala Ser His Cys Asn Glu
290 295 300

Met Ser Trp Ile Gln Ser Ile Pro Phe Val His Leu Gly His Arg Asp
305 310 315 320

Asn Ile Glu Asp Asp Leu Leu Asn Arg Asn Asn Thr Phe Lys Pro Phe
325 330 335

Ala Glu Tyr Lys Ser Asp Tyr Val Tyr Glu Pro Phe Pro Lys Glu Val
340 345 350

Trp Glu Gln Ile Phe Ser Thr Trp Leu Leu Lys Pro Gly Ala Gly Ile
355 360 365

Met Ile Phe Asp Pro Tyr Gly Ala Thr Ile Ser Ala Thr Pro Glu Trp
370 375 380

- 11 -

Ala Thr Pro Phe Pro His Arg Lys Gly Val Leu Phe Asn Ile Gln Tyr
 385 390 395 400

Val Asn Tyr Trp Phe Ala Pro Gly Ala Gly Ala Ala Pro Leu Ser Trp
 405 410 415

Ser Lys Glu Ile Tyr Asn Tyr Met Glu Pro Tyr Val Ser Lys Asn Pro
 420 425 430

Arg Gln Ala Tyr Ala Asn Tyr Arg Asp Ile Asp Leu Gly Arg Asn Glu
 435 440 445

Val Val Asn Asp Val Ser Thr Phe Ser Ser Gly Leu Val Trp Gly Gln
 450 455 460

Lys Tyr Phe Lys Gly Asn Phe Gln Arg Leu Ala Ile Thr Lys Gly Lys
 465 470 475 480

Val Asp Pro Thr Asp Tyr Phe Arg Asn Glu Gln Ser Ile Pro Pro Leu
 485 490 495

Ile Lys Lys Tyr
 500

<210> 5

<211> 1503

<212> DNA

<213> Phleum pratense

<220>

<221> artificial_DNA_sequence

<222> (1)..(69)

<223> DNA sequence derived from sequenced protein

<220>

<221> native_DNA_sequence

<222> (70)..(1503)

<223>

- 12 -

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (1503)

<223>

<400> 5

tac ttc ccg ccg ccg gct gct aaa gaa gac ttc ctg ggt tgc ctg gtt	48
Tyr Phe Pro Pro Pro Ala Ala Lys Glu Asp Phe Leu Gly Cys Leu Val	
1 5 10 15	
aaa gaa atc ccg ccg cgt ctg ttg tac gcg aaa tcg tcg ccg gcg tat	96
Lys Glu Ile Pro Pro Arg Leu Leu Tyr Ala Lys Ser Ser Pro Ala Tyr	
20 25 30	
ccc tca gtc ctg ggg cag acc atc cgg aac tcg agg tgg tcg tcg ccg	144
Pro Ser Val Leu Gly Gln Thr Ile Arg Asn Ser Arg Trp Ser Ser Pro	
35 40 45	
gac aac gtg aag ccg ctc tac atc atc acc ccc acc aac gtc tcc cac	192
Asp Asn Val Lys Pro Leu Tyr Ile Ile Thr Pro Thr Asn Val Ser His	
50 55 60	
atc cag tcc gcc gtg gtg tgc ggc cgc cgc cac agc gtc cgc atc cgc	240
Ile Gln Ser Ala Val Val Cys Gly Arg Arg His Ser Val Arg Ile Arg	
65 70 75 80	
gtg cgc agc ggc ggg cac gac tac gag ggc ctc tcg tac cgg tct ttg	288
Val Arg Ser Gly Gly His Asp Tyr Glu Gly Leu Ser Tyr Arg Ser Leu	
85 90 95	
cag ccc gag acg ttc gcc gtc gtc gac ctc aac aag atg cgg gcg gtg	336
Gln Pro Glu Thr Phe Ala Val Val Asp Leu Asn Lys Met Arg Ala Val	
100 105 110	
tgg gtg gac ggc aag gcc cgc acg gcg tgg gtg gac tcc ggc gcg cag	384
Trp Val Asp Gly Lys Ala Arg Thr Ala Trp Val Asp Ser Gly Ala Gln	
115 120 125	
ctc ggc gag ctc tac tac gcc atc tat aag gcg agc ccc acg ctg gcg	432
Leu Gly Glu Leu Tyr Tyr Ala Ile Tyr Lys Ala Ser Pro Thr Leu Ala	
130 135 140	
ttc ccg gcc ggc gtg tgc ccg acg atc gga gtg ggc ggc aac ttc gcg	480
Phe Pro Ala Gly Val Cys Pro Thr Ile Gly Val Gly Gly Asn Phe Ala	
145 150 155 160	
ggc ggc ggc ttc ggc atg ctg ctg cgc aag tac ggc atc gcc gcg gag	528
Gly Gly Gly Phe Gly Met Leu Leu Arg Lys Tyr Gly Ile Ala Ala Glu	
165 170 175	
aac gtc atc gac gtg aag ctc gtc gac gcc aac ggc aag ctg cac gac	576
Asn Val Ile Asp Val Lys Leu Val Asp Ala Asn Gly Lys Leu His Asp	
180 185 190	
aag aag tcc atg ggc gac gac cat ttc tgg gcc gtc agg ggc ggc ggc	624
Lys Lys Ser Met Gly Asp Asp His Phe Trp Ala Val Arg Gly Gly Gly	
195 200 205	

- 13 -

ggc gag agc ttc ggc atc gtg gtc gcg tgg cag gtg aag ctc ctg ccg Gly Glu Ser Phe Gly Ile Val Val Ala Trp Gln Val Lys Leu Leu Pro 210 215 220	672
gtg ccg ccc acc gtg aca ata ttc aag atc tcc aag aca gtg agc gag Val Pro Pro Thr Val Thr Ile Phe Lys Ile Ser Lys Thr Val Ser Glu 225 230 235 240	720
ggc gcc gtg gac atc atc aac aag tgg caa gtg gtc gcg ccg cag ctt Gly Ala Val Asp Ile Ile Asn Lys Trp Gln Val Val Ala Pro Gln Leu 245 250 255	768
ccc gcc gac ctc atg atc cgc atc atc gcg cag ggg ccc aag gcc acg Pro Ala Asp Leu Met Ile Arg Ile Ile Ala Gln Gly Pro Lys Ala Thr 260 265 270	816
ttc gag gcc atg tac ctc ggc acc tgc aaa acc ctg acg ccg ttg atg Phe Glu Ala Met Tyr Leu Gly Thr Cys Lys Thr Leu Thr Pro Leu Met 275 280 285	864
agc agc aag ttc ccg gag ctc ggc atg aac ccc tcc cac tgc aac gag Ser Ser Lys Phe Pro Glu Leu Gly Met Asn Pro Ser His Cys Asn Glu 290 295 300	912
atg tca tgg atc cag tcc atc ccc ttc gtc cac ctc ggc cac agg gac Met Ser Trp Ile Gln Ser Ile Pro Phe Val His Leu Gly His Arg Asp 305 310 315 320	960
gcc ctc gag gac gac ctc ctc aac cgg aac aac tcc ttc aag ccc ttc Ala Leu Glu Asp Asp Leu Leu Asn Arg Asn Asn Ser Phe Lys Pro Phe 325 330 335	1008
gcc gaa tac aag tcc gac tac gtc tac cag ccc ttc ccc aag acc gtc Ala Glu Tyr Lys Ser Asp Tyr Val Tyr Gln Pro Phe Pro Lys Thr Val 340 345 350	1056
tgg gag cag atc ctc aac acc tgg ctc gtc aag ccc ggc gcc ggg atc Trp Glu Gln Ile Leu Asn Thr Trp Leu Val Lys Pro Gly Ala Gly Ile 355 360 365	1104
atg atc ttc gac ccc tac ggc gcc acc atc agc gcc acc ccg gag tcc Met Ile Phe Asp Pro Tyr Gly Ala Thr Ile Ser Ala Thr Pro Glu Ser 370 375 380	1152
gcc acg ccc ttc cct cac cgc aag ggc gtc ctc ttc aac atc cag tac Ala Thr Pro Phe Pro His Arg Lys Gly Val Leu Phe Asn Ile Gln Tyr 385 390 395 400	1200
gtc aac tac tgg ttc gcc ccg gga gcc gcc gcc gcg ccc ctc tcg tgg Val Asn Tyr Trp Phe Ala Pro Gly Ala Ala Ala Pro Leu Ser Trp 405 410 415	1248
agc aag gac atc tac aac tac atg gag ccc tac gtg agc aag aac ccc Ser Lys Asp Ile Tyr Asn Tyr Met Glu Pro Tyr Val Ser Lys Asn Pro 420 425 430	1296
agg cag gcg tac gca aac tac agg gac atc gac ctc ggc agg aac gag Arg Gln Ala Tyr Ala Asn Tyr Arg Asp Ile Asp Leu Gly Arg Asn Glu 435 440 445	1344
gtg gtc aac gac gtc tcc acc tac gcc agc ggc aag gtc tgg ggc cag	1392

- 14 -

Val Val Asn Asp Val Ser Thr Tyr Ala Ser Gly Lys Val Trp Gly Gln
 450 455 460
 aaa tac ttc aag ggc aac ttc gag agg ctc gcc att acc aag ggc aag 1440
 Lys Tyr Phe Lys Gly Asn Phe Glu Arg Leu Ala Ile Thr Lys Gly Lys
 465 470 475 480
 gtc gat cct acc gac tac ttc agg aac gag cag agc atc ccg ccg ctc 1488
 Val Asp Pro Thr Asp Tyr Phe Arg Asn Glu Gln Ser Ile Pro Pro Leu
 485 490 495
 atc aaa aag tac tga 1503
 Ile Lys Lys Tyr
 500

<210> 6
 <211> 500
 <212> PRT
 <213> Phleum pratense

<400> 6
 Tyr Phe Pro Pro Pro Ala Ala Lys Glu Asp Phe Leu Gly Cys Leu Val
 1 5 10 15
 Lys Glu Ile Pro Pro Arg Leu Leu Tyr Ala Lys Ser Ser Pro Ala Tyr
 20 25 30
 Pro Ser Val Leu Gly Gln Thr Ile Arg Asn Ser Arg Trp Ser Ser Pro
 35 40 45
 Asp Asn Val Lys Pro Leu Tyr Ile Ile Thr Pro Thr Asn Val Ser His
 50 55 60
 Ile Gln Ser Ala Val Val Cys Gly Arg Arg His Ser Val Arg Ile Arg
 65 70 75 80
 Val Arg Ser Gly Gly His Asp Tyr Glu Gly Leu Ser Tyr Arg Ser Leu
 85 90 95
 Gln Pro Glu Thr Phe Ala Val Val Asp Leu Asn Lys Met Arg Ala Val
 100 105 110
 Trp Val Asp Gly Lys Ala Arg Thr Ala Trp Val Asp Ser Gly Ala Gln
 115 120 125
 Leu Gly Glu Leu Tyr Tyr Ala Ile Tyr Lys Ala Ser Pro Thr Leu Ala
 130 135 140

- 15 -

Phe Pro Ala Gly Val Cys Pro Thr Ile Gly Val Gly Gly Asn Phe Ala
 145 150 155 160

Gly Gly Gly Phe Gly Met Leu Leu Arg Lys Tyr Gly Ile Ala Ala Glu
 165 170 175

Asn Val Ile Asp Val Lys Leu Val Asp Ala Asn Gly Lys Leu His Asp
 180 185 190

Lys Lys Ser Met Gly Asp Asp His Phe Trp Ala Val Arg Gly Gly Gly
 195 200 205

Gly Glu Ser Phe Gly Ile Val Val Ala Trp Gln Val Lys Leu Leu Pro
 210 215 220

Val Pro Pro Thr Val Thr Ile Phe Lys Ile Ser Lys Thr Val Ser Glu
 225 230 235 240

Gly Ala Val Asp Ile Ile Asn Lys Trp Gln Val Val Ala Pro Gln Leu
 245 250 255

Pro Ala Asp Leu Met Ile Arg Ile Ile Ala Gln Gly Pro Lys Ala Thr
 260 265 270

Phe Glu Ala Met Tyr Leu Gly Thr Cys Lys Thr Leu Thr Pro Leu Met
 275 280 285

Ser Ser Lys Phe Pro Glu Leu Gly Met Asn Pro Ser His Cys Asn Glu
 290 295 300

Met Ser Trp Ile Gln Ser Ile Pro Phe Val His Leu Gly His Arg Asp
 305 310 315 320

Ala Leu Glu Asp Asp Leu Leu Asn Arg Asn Asn Ser Phe Lys Pro Phe
 325 330 335

Ala Glu Tyr Lys Ser Asp Tyr Val Tyr Gln Pro Phe Pro Lys Thr Val
 340 345 350

Trp Glu Gln Ile Leu Asn Thr Trp Leu Val Lys Pro Gly Ala Gly Ile
 355 360 365

Met Ile Phe Asp Pro Tyr Gly Ala Thr Ile Ser Ala Thr Pro Glu Ser
 370 375 380

- 16 -

Ala Thr Pro Phe Pro His Arg Lys Gly Val Leu Phe Asn Ile Gln Tyr
385 390 395 400

Val Asn Tyr Trp Phe Ala Pro Gly Ala Ala Ala Pro Leu Ser Trp
405 410 415

Ser Lys Asp Ile Tyr Asn Tyr Met Glu Pro Tyr Val Ser Lys Asn Pro
420 425 430

Arg Gln Ala Tyr Ala Asn Tyr Arg Asp Ile Asp Leu Gly Arg Asn Glu
435 440 445

Val Val Asn Asp Val Ser Thr Tyr Ala Ser Gly Lys Val Trp Gly Gln
450 455 460

Lys Tyr Phe Lys Gly Asn Phe Glu Arg Leu Ala Ile Thr Lys Gly Lys
465 470 475 480

Val Asp Pro Thr Asp Tyr Phe Arg Asn Glu Gln Ser Ile Pro Pro Leu
485 490 495

Ile Lys Lys Tyr
500

<210> 7

<211> 10

<212> PRT

<213> Phleum pratense

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> undetermined amino acid

<400> 7

Ile Val Ala Leu Pro Xaa Gly Met Leu Lys
1 5 10

<210> 8

<211> 14

- 17 -

<212> PRT

<213> Lolium perenne

<400> 8

Phe Leu Glu Pro Val Leu Gly Leu Ile Phe Pro Ala Gly Val
1 5 10

<210> 9

<211> 9

<212> PRT

<213> Lolium perenne

<400> 9

Gly Leu Ile Glu Phe Pro Ala Gly Val
1 5

<210> 10

<211> 12

<212> PRT

<213> Dactylus glomerata

<400> 10

Asp Ile Tyr Asn Tyr Met Glu Pro Tyr Val Ser Lys
1 5 10

<210> 11

<211> 11

<212> PRT

<213> Dactylus glomerata

<400> 11

Val Asp Pro Thr Asp Tyr Phe Gly Asn Glu Gln
1 5 10

<210> 12

- 18 -

<211> 17

<212> PRT

<213> Dactylus glomerata

<400> 12

Ala Arg Thr Ala Trp Val Asp Ser Gly Ala Gln Leu Gly Glu Leu Ser
1 5 10 15

Tyr

<210> 13

<211> 15

<212> PRT

<213> Dactylus glomerata

<400> 13

Gly Val Leu Phe Asn Ile Gln Tyr Val Asn Tyr Trp Phe Ala Pro
1 5 10 15

<210> 14

<211> 11

<212> PRT

<213> Cynodon dactylon

<400> 14

Lys Thr Val Lys Pro Leu Tyr Ile Ile Thr Pro
1 5 10

<210> 15

<211> 22

<212> PRT

<213> Cynodon dactylon

<400> 15

- 19 -

Lys Gln Val Glu Arg Asp Phe Leu Thr Ser Leu Thr Lys Asp Ile Pro
1 5 10 15

Gln Leu Tyr Leu Lys Ser
20

<210> 16

<211> 16

<212> PRT

<213> Cynodon dactylon

<400> 16

Thr Val Lys Pro Leu Tyr Ile Ile Thr Pro Ile Thr Ala Ala Met Ile
1 5 10 15

<210> 17

<211> 24

<212> PRT

<213> Cynodon dactylon

<400> 17

Leu Arg Lys Tyr Gly Thr Ala Ala Asp Asn Val Ile Asp Ala Lys Val
1 5 10 15

Val Asp Ala Gln Gly Arg Leu Leu
20

<210> 18

<211> 14

<212> PRT

<213> Cynodon dactylon

<400> 18

Lys Trp Gln Thr Val Ala Pro Ala Leu Pro Asp Pro Asn Met
1 5 10

<210> 19

- 20 -

<211> 15

<212> PRT

<213> Cynodon dactylon

<400> 19

Val	Thr	Trp	Ile	Glu	Ser	Val	Pro	Tyr	Ile	Pro	Met	Gly	Asp	Lys
1				5					10					15

<210> 20

<211> 19

<212> PRT

<213> Cynodon dactylon

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> undetermined amino acid

<400> 20

Gly	Thr	Val	Arg	Gln	Leu	Leu	Xaa	Arg	Thr	Ser	Asn	Ile	Lys	Ala	Phe
1				5					10					15	

Gly Lys Tyr

<210> 21

<211> 23

<212> PRT

<213> Cynodon dactylon

<400> 21

Thr	Ser	Asn	Ile	Lys	Ala	Phe	Gly	Lys	Tyr	Lys	Ser	Asp	Tyr	Val	Leu
1				5					10					15	

Glu	Pro	Ile	Pro	Lys	Lys	Ser
						20

- 21 -

<210> 22

<211> 13

<212> PRT

<213> Cynodon dactylon

<400> 22

Tyr Arg Asp Leu Asp Leu Gly Val Asn Gln Val Val Gly
1 5 10

<210> 23

<211> 15

<212> PRT

<213> Cynodon dactylon

<400> 23

Ser Ala Thr Pro Pro Thr His Arg Ser Gly Val Leu Phe Asn Ile
1 5 10 15

<210> 24

<211> 36

<212> PRT

<213> Cynodon dactylon

<400> 24

Ala Ala Ala Ala Leu Pro Thr Gln Val Thr Arg Asp Ile Tyr Ala Phe
1 5 10 15

Met Thr Pro Tyr Val Ser Lys Asn Pro Arg Gln Ala Tyr Val Asn Tyr
20 25 30

Arg Asp Leu Asp
35

<210> 25

<211> 149

- 22 -

<212> DNA

<213> Phleum pratense

<400> 25

caccggaagg ggggtgctgtt caacatccag tacgtcaact actggttcgc cccgggagcc	60
ggcgcgggcgc cattgtcgtg gagcaaggag atctacaact acatggagcc gtacgtgagc	120
aaggacccccg tccaggccta cgccaacta	149

<210> 26

<211> 299

<212> DNA

<213> Phleum pratense

<400> 26

actactggtt cgccccggga gccggcgcggt cgccattgtc gtggagcaag gagatctaca	60
actacatgga gccatacgtg agcaagaacc ccaggcaggc ctacgccaac tacagggaca	120
tgcacctcgg gaggaacgag gtggtgaacg acgtctccac cttcagcagc ggtttggtgt	180
ggggccagaa atacttcaag ggcaacttcc agaggctcgc catcaccaag ggcaagggtg	240
atccccaccga ctacttcagg aacgagcaga gcatcccgcc gctcatcaaa aagtactga	299

<210> 27

<211> 33

<212> PRT

<213> Phleum pratense

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (14)..(14)

<223> undetermined amino acid

<400> 27

Tyr	Phe	Pro	Pro	Pro	Ala	Ala	Lys	Glu	Asp	Phe	Leu	Gly	Xaa	Leu	Val
1				5					10					15	

- 23 -

Lys Glu Ile Pro Pro Arg Leu Leu Tyr Ala Lys Ser Ser Pro Ala Tyr
20 25 30

Pro

<210> 28

<211> 18

<212> PRT

<213> Phleum pratense

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> undetermined amino acid

<400> 28

Ser Ala Thr Pro Phe Xaa His Arg Lys Gly Val Leu Phe Asn Ile Gln
1 5 10 15

Tyr Val

<210> 29

<211> 10

<212> PRT

<213> Phleum pratense

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(8)

<223> undetermined amino acid

<400> 29

Gly Leu Xaa Tyr Arg Xaa Leu Xaa Pro Glu
1 5 10

- 24 -

<210> 30

<211> 12

<212> PRT

<213> Phleum pratense

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(9)

<223> undetermined amino acid

<400> 30

Lys Xaa Met Gly Asp Asp His Phe Xaa Ala Val Arg
1 5 10

<210> 31

<211> 9

<212> PRT

<213> Phleum pratense

<400> 31

Ala Pro Glu Gly Ala Val Asp Ile Ile
1 5

<210> 32

<211> 16

<212> PRT

<213> Phleum pratense

<400> 32

Met Glu Pro Tyr Val Ser Ile Asn Pro Val Gln Ala Tyr Ala Asn Tyr
1 5 10 15

<210> 33

- 25 -

<211> 15

<212> PRT

<213> Phleum pratense

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (14)..(14)

<223> undetermined amino acid

<400> 33

Tyr	Phe	Pro	Pro	Pro	Ala	Ala	Lys	Glu	Asp	Phe	Leu	Gly	Xaa	Leu
1				5					10					15

<210> 34

<211> 10

<212> PRT

<213> Phleum pratense

<400> 34

Leu	Tyr	Ala	Lys	Ser	Ser	Pro	Ala	Tyr	Pro
1				5					10

<210> 35

<211> 33

<212> PRT

<213> Phleum pratense

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (14)..(14)

<223> undetermined amino acid

<400> 35

- 26 -

Tyr Phe Pro Pro Pro Ala Ala Lys Glu Asp Phe Leu Gly Xaa Leu Val
1 5 10 15

Lys Glu Ile Pro Pro Arg Leu Leu Tyr Ala Lys Ser Ser Pro Ala Tyr
20 25 30

Pro

<210> 36

<211> 29

<212> PRT

<213> Phleum pratense

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (14)..(14)

<223> undetermined amino acid

<400> 36

Tyr Phe Pro Pro Pro Ala Ala Lys Glu Asp Phe Leu Gly Xaa Leu Val
1 5 10 15

Lys Glu Pro Pro Arg Leu Leu Tyr Ala Lys Ser Ser Pro
20 25

<210> 37

<211> 15

<212> PRT

<213> Phleum pratense

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(14)

<223> undetermined amino acid

- 27 -

<400> 37

Tyr	Phe	Pro	Xaa	Xaa	Ala	Ala	Lys	Glu	Asp	Phe	Leu	Gly	Xaa	Leu
1				5					10					15

<210> 38

<211> 15

<212> PRT

<213> Phleum pratense

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(14)

<223> undetermined amino acid

<400> 38

Tyr	Phe	Pro	Xaa	Xaa	Ala	Lys	Lys	Glu	Asp	Phe	Leu	Gly	Xaa	Leu
1				5					10					15

<210> 39

<211> 15

<212> PRT

<213> Phleum pratense

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(14)

<223> undetermined amino acid

<400> 39

Tyr	Phe	Pro	Xaa	Xaa	Ala	Ala	Lys	Asp	Asp	Phe	Leu	Gly	Xaa	Leu
1				5					10					15

<210> 40

<211> 11

- 28 -

<212> PRT

<213> Phleum pratense

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(5)

<223> undetermined amino acid

<400> 40

Tyr Phe Pro Xaa Xaa Leu Ala Asn Glu Asp Phe
1 5 10

<210> 41

<211> 18

<212> PRT

<213> Phleum pratense

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> undetermined amino acid

<400> 41

Ser Ala Thr Pro Phe Xaa His Arg Lys Gly Val Leu Phe Asn Ile Gln
1 5 10 15

Tyr Val

<210> 42

<211> 10

<212> PRT

<213> Phleum pratense

- 29 -

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(8)

<223> undetermined amino acid

<400> 42

Gly	Leu	Xaa	Tyr	Arg	Xaa	Leu	Xaa	Pro	Glu
1				5					10

<210> 43

<211> 12

<212> PRT

<213> Phleum pratense

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(9)

<223> undetermined amino acid

<400> 43

Lys	Xaa	Met	Gly	Asp	Asp	His	Phe	Xaa	Ala	Val	Arg
1				5						10	

<210> 44

<211> 9

<212> PRT

<213> Phleum pratense.

<400> 44

Ala	Pro	Glu	Gly	Ala	Val	Asp	Ile	Ile
1				5				

<210> 45

<211> 16

- 30 -

<212> PRT

<213> Phleum pratense

<400> 45

Met Glu Pro Tyr Val Ser Ile Asn Pro Val Gln Ala Tyr Ala Asn Tyr
1 5 10 15

<210> 46

<211> 29

<212> DNA

<213> Phleum pratense

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(29)

<223> 'n' means inosin

<400> 46

ytntaygcna arwsnwsncc ngcntaycc

29

<210> 47

<211> 28

<212> DNA

<213> Phleum pratense

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(28)

<223> 'n' means inosin

<400> 47

caymgnaarg gngtnytntt yaayatmc

28

<210> 48

- 31 -

<211> 26

<212> DNA

<213> Phleum pratense

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(26)

<223> 'n' means inosin

<400> 48

tarttngcrt angcytgnac nggrtt

26

<210> 49

<211> 23

<212> DNA

<213> Phleum pratense

<400> 49

actactgggt cgccccggga gcc

23

<210> 50

<211> 28

<212> DNA

<213> Phleum pratense

<400> 50

tgaagtattt ctggccccac accaaacc

28

<210> 51

<211> 24

<212> DNA

<213> Phleum pratense

<400> 51

cccttggtga tggcgagcct ctgg

24

16-09-2003

PCT/EP 03 EP0306092

- 32 -

<210> 52

<211> 23

<212> DNA

<213> Phleum pratense

<400> 52

ctcagtcctg gggcagacca tcc

23

Patentansprüche

1. Ein DNA-Molekül entsprechend einer Nukleotidsequenz, ausgewählt aus einer Gruppe bestehend aus SEQ ID NO 1, SEQ ID NO 3 und SEQ ID NO 5.
2. Ein DNA-Molekül, umfassend eine Nukleotidsequenz gemäß Anspruch 1 beginnend mit der Position 70, welches für ein Polypeptid mit den Eigenschaften des Majorallergens Phl p 4 aus *Phleum pratense* kodiert.
3. Ein DNA-Molekül entsprechend einer Nukleotidsequenz, die für das Majorallergen Phl p 4 aus *Phleum pratense* kodiert.
4. Ein DNA-Molekül, das mit einem DNA-Molekül gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3 unter stringenten Bedingungen hybridisiert und von DNA-Sequenzen von *Poaceae*-Spezies abstammt.
5. Ein DNA-Molekül, kodierend für ein Polypeptid, welches mit dem Majorallergen Phl p 4 aus *Phleum pratense* immunologisch kreuzreagiert, und von DNA-Sequenzen von *Poaceae*-Spezies abstammt.
6. Ein DNA-Molekül, entsprechend einer Teilsequenz oder einer Kombination von Teilsequenzen nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 5, welche für ein immunmodulatorisches, T-Zell-reaktives Fragment eines Gruppe-4-*Poaceae*-Allergens kodiert.
7. Ein DNA-Molekül gemäß Anspruch 6, kodierend für ein Phl p 4 Fragment, ausgewählt aus einer Gruppe bestehend aus
 - Fragment 1-200, mit den Aminosäuren 1-200 des Phl p 4,
 - Fragment 185-500, mit den Aminosäuren 185-500 des Phl p 4.

8. Ein DNA-Molekül, entsprechend einer Nukleotidsequenz gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 7, kodierend für ein immunmodulatorisches T-Zell reaktives Fragment, dadurch gekennzeichnet, daß besagte Nukleotidsequenz durch gezielte Mutation einzelner Codons, Eliminierung oder Addition gezielt verändert wurde.
9. Ein DNA-Molekül gemäß Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß die besagte Mutation zum Austausch eines, mehrerer oder aller Cysteine des entsprechenden Polypeptids gegen eine andere Aminosäure führt.
10. Ein rekombinanter DNA-Expressionsvektor oder ein Klonierungssystem, enthaltend ein DNA-Molekül gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 9, funktionell verbunden mit einer Expressioniskontrollsequenz.
11. Ein Wirtsorganismus, transformiert mit einem DNA-Molekül gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 9 oder einem Expressionsvektor gemäß Anspruch 10.
12. Ein Verfahren zur Herstellung eines Polypeptids, kodiert durch eine DNA-Sequenz gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 9, durch Kultivieren eines Wirtsorganismus gemäß Anspruch 11 und Gewinnung des entsprechenden Polypeptids aus der Kultur.
13. Ein rekombinant gemäß Anspruch 12 hergestelltes Polypeptid, welches von einer DNA-Sequenz gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 9 kodiert wird.
14. Ein Polypeptid gemäß Anspruch 13 als Arzneimittel.
15. Eine pharmazeutische Zubereitung, enthaltend mindestens ein Polypeptid gemäß Anspruch 14 und gegebenenfalls weitere Wirk- und/oder

Hilfsstoffe zur Diagnose und/oder Behandlung von Allergien, an deren Auslösung Gruppe-4-Allergene der *Poaceae* beteiligt sind.

16. Verwendung mindestens eines Polypeptids gemäß Anspruch 14 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Diagnose und/oder Behandlung von Allergien, an deren Auslösung Gruppe-4-Allergene der *Poaceae* beteiligt sind und/oder zur Prävention solcher Allergien.
17. Ein DNA-Molekül gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 9 als Arzneimittel.
18. Ein rekombinanter Expressionsvektor gemäß Anspruch 10 als Arzneimittel.
19. Eine pharmazeutische Zubereitung, enthaltend mindestens ein DNA-Molekül gemäß Anspruch 17 oder mindestens einen Expressionsvektor gemäß Anspruch 18 und gegebenenfalls weitere Wirk- und/oder Hilfsstoffe zur immuntherapeutischen DNA-Vakzinierung von Patienten mit Allergien, an deren Auslösung Gruppe-4-Allergene der *Poaceae* beteiligt sind und/oder zur Prävention solcher Allergien.
20. Verwendung mindestens eines DNA-Moleküls gemäß Anspruch 17 oder mindestens eines Expressionsvektors gemäß Anspruch 18 zur Herstellung eines Arzneimittels zur immuntherapeutischen DNA-Vakzinierung von Patienten mit Allergien, an deren Auslösung Gruppe-4-Allergene der *Poaceae* beteiligt sind und/oder zur Prävention solcher Allergien.